



TITLE:

計画11-1 蛍光in situハイブリダイゼーション法による霊長類の核型進化モデルの検討(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

数藤, 由美子

CITATION:

数藤, 由美子. 計画11-1 蛍光in situハイブリダイゼーション法による霊長類の核型進化モデルの検討(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 84-85

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164692>

RIGHT:

ンパク質ファミリーである可能性が示唆された。
〔機能〕 ミクロソームによる芳香族炭化水素の酸化代謝は主に(+) - [1R, 2R] - trans - ジヒドロジオール体を酸化するジヒドロジオール脱水素酵素の立体特異性については、ラットの単量体酵素が(+) - [1S, 2S] - 異性体に特異性を示すことが報告されているにすぎない。両異性体に対する反応性と未酸化基質のCDスペクトル分析により、サル腎の二量体ジヒドロジオール脱水素酵素はラットの単量体酵素と逆の立体特異性を示すことが判明した。さらに、本酵素とラットの酵素を用いて調製した(+) - [1S, 2S] - と(-) - [1R, 2R] - trans - ベンセンジヒドロジオールに対する立体特異性を他の動物組織のジヒドロジオール脱水素酵素と比較した結果、単量体酵素は(+) - [1S, 2S] 体に、二量体酵素は(-) - [1R, 2R] 体に特異性を示すことが明らかになった。二量体ジヒドロジオール脱水素酵素は、前年度に示したメイラード反応の制御酵素としての生理的重要性とともに、薬物・異物の芳香族炭化水素代謝においても単量体酵素より重要な役割を果たすことが示唆された。

計画10-3

優位サルと劣位サルの同居によるACTH, コルチゾール, テストステロンの変化

木村和正(国立精神・神経センター
精神保健研究所 心身医学研究部)

昨年度に引き続き、二匹のサルを同居させた際の、優劣に基づくストレスの反応の差に関して研究を行った。

〔方法〕 3才〜4才のアカゲザルのオスを用いた。任意の二匹を同一ケージに入れ二時間同居させ、血液中のACTHとコルチゾールの変化を測定した。また一組のサルに関して一年半にわたり、優劣関係と血中テストステロン値を追跡した。一方、優劣によるストレス物質の反応の差の機構を知るため、CRH(副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン)負荷試験を行い、孤立状態と同居状態でのACTHとコルチゾールの分泌を比較した。なお、優劣はエサの取り合いで判定した。

〔結果〕 同居時には、優位サルでは一過性のACTHの高分泌がみられるのに対し、劣位サルではこれがみられないという昨年の結果が再確認さ

れた。また、一組のサルの長期の追跡では、優劣は血中テストステロンの比の大小と関連していることが認められた。三組のサルにおけるCRH負荷試験の結果は、孤立状態でのACTH分泌にはペア同志で差がみられたなかったが、同居状態では、優劣が明らかな二組に関しては劣位でのACTH分泌は優位と比べて低下していた。一方、優劣が明らかでない一組では同居状態でも差がみられなかった。

〔結論〕 一般的にストレス反応としては、視床下部(CRH) - 下垂体(ACTH) - 副腎皮質(コルチゾール)系(HPA系)の反応と、交感神経 - 副腎髄質系の反応が主要なものと考えられている。一方、齧歯類その他の研究では、優劣の、組み合わせのストレスで劣位の方がHPA系の反応が強いとされている。本研究のアカゲザルでの結果によれば、同居時に劣位サルでHPA系の抑制が生じており、その機構の一部として、下垂体においてACTH分泌が抑制されていることが示唆された。また、血中テストステロンの比(絶対値ではなくて)が優劣と関係していることから、ストレス反応には、血中テストステロンと各個体の経験や遺伝が総合的に関わっていることが考えられる。

計画11-1

蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法による霊長類の核型進化モデルの検討

数藤由美子(東京大学大学院・理学系研究科)

高等霊長類における核型進化を、新たな分子細胞遺伝学的方法を用いて調べることを目的とした。

進化の過程における染色体再配列を調べるために、ヒト第6番染色体のコスミド・クローン21個と主要組織適合抗原系の3遺伝子(HLA-B、DQ、補体成分C4)をプローブとした2色標識の蛍光 in situ ハイブリダイゼーション(FISH)法により、高等霊長類5種間(ヒト、チンパンジー、マントヒヒ、カニクイザル、グリバットモンキー)で比較マッピングおよびクローンの配列順序決定を行った。

その結果、ヒトとチンパンジーの間ではクローンの配列順序が完全に一致し、両者の高い近縁性を裏づけた。同様な傾向はヒヒとマカクとの間でもみられた。また主要組織適合抗原系の3遺伝子の配列順序は、ヒト・チンパンジーと、ヒヒ・マ

カク・グリベットモンキーで異なることが明らかとなった。

24クロソムの配列の比較から、ヒト第6番染色体は複数のサブバンドから成るいくつかの領域に分けられ、それぞれは1つの群としてのまとまりをもつことがわかった。各種間の染色体対応は、ヒヒ/ヒトで4回の逆位、グリベットモンキー/ヒトで1回の融合又は開裂と7回の逆位で説明される。動原体位置変化の問題は今後の大きな課題の一つである。いずれにせよヒト第6番染色体は、霊長類の進化の過程で全体的には保存され、その内部でダイナミックな構造変化を繰り返しつつ構成されたきたといえる。このような変化は従来の方法では検出されなかったものである。既に染色体ペインティングによる相同性分析から高等霊長類における染色体の全体的保存性が認められることから、他のヒト染色体も第6番と同様にして構成されたのであろう。新たな染色体構成をもつ個体群の確立は種分化をもたらす要因の一つと考えられる。より多くの種についてのより多くのDNAプローブを用いたFISHによる解析は、今後ヒトのゲノムの成り立ちや進化のプロセスを解明する上で重要な情報をもたらすといえる。

計画11-2

霊長類におけるヒト癌遺伝子のマッピング

田口尚弘（高知医大・解剖）

チンパンジー・日本ザルのPHA刺激幼若化リンパ球から得られた染色体中期分裂像に、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション（FISH）によりヒト遺伝子のマッピングを行った。使用したプローブはc-myc, JH14, 3番染色体より得られたコスミドプローブ（肺癌、卵巣癌、腎癌等に癌抑制遺伝子の存在が示唆されている3p212座位）であった。

FISHによりマッピングされたc-myc, JH14, 3番染色体より得られたコスミドプローブの染色体上には、従来からのGバンド解析で発表されているヒトとこれらのサル染色体上の相対的位置関係に矛盾は見られなかった。すなわち、c-myc遺伝子は日本ザルでは8番染色体長腕末端部（ヒトでも8番染色体長腕の末端部）にそのシグナルが、一方、チンパンジーでは、7番染色体上にシグナルが観察された。ヒトの3番染色体

より得られた3p21プローブのマッピングでは、チンパンジーの第2番染色体にシグナルが得られた。しかし、日本ザルでは、ハイブリダイゼーションが得られなかった。このことは、日本ザルでは、進化過程で物理的な遺伝子変化（遺伝子分割、他の染色体上に分散等）により、3p21部位DNAが失われたものと推測される。今後さらに、マップする遺伝子数を増やし、霊長類間の染色体リアレンジメントの比較分析を進める。

計画11-3

霊長類における染色体進化の理論的研究

今井弘民（遺伝研）

従来染色体進化の研究は、各型を種毎に直接比較した。この手法は、各型の相同性の高い近縁種には有効であるが、系統的にかけ離れた分類群や霊長類全体の各型進化の全体像を解析することは難しい。そこで筆者は、各型を染色体数 $2n$ と染色体腕数 $2AN$ を用いて数値化し、グラフ上の一点（ $2AN, 2n$ ）として表す核グラフ法を考案した。本手法では、数百の核型をグラフ上の点の分布として表現でき、その分布パターンから核型進化の全体的動向を解析することができる。そこで平井教官との本共同研究では、核グラフ法を霊長類へ応用する可能性を検討した。その結果、本手法は霊長類の核型進化の数量的アプローチとして有用である見通しがついた。ただし核グラフ法には多数種の鮮明なCバンド核型を必要とするので、今後さらに本共同研究を継続させ、平井教官のデータの蓄積を待って本研究を完成させる予定である。

計画11-4

rDNAの細胞遺伝学的研究

山本雅敏・朴 洪石（京都工芸繊維大学）

rDNA遺伝子は生物の生命維持機能に必須な遺伝子であることからDNA塩基配列の変化は進化的に緩慢で、近縁種間での差はあまり見られない。したがって、近縁種間の比較にはキロショウジョウバエ類におけるrDNAへのレトロトランスポソンの比較といった例を除けば、一般的にrDNAは適した材料とはいえない。しかしながら種の分化が生じてから進化的時間が非常に長く経過したと思われる種間の比較には、その塩基配列の高度の